Aus dem Hygienischen Institut der Ludwigs-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. Seiser

Die Kombination von physikalischen und chemischen Methoden im Dienste der Keimschädigung und Keimvernichtung.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität

zu

Gießen

vorgelegt von

Erwin Schwarz aus Gießen

Gießen 1937

Dekan: Prof. Dr. Seiser

Referent: Prof. Dr. Seiser

Tag der Genehmigung durch den Prüfungsausschuß: 1. 11. 1937

Inhaltsverzeichnis

I. Anwendungsgebiete kombinierter Methoden der Keimabtötung.

1. Konservierungsmethoden.

Die kombinierte Anwendung physikalischer und chemischer Mittel wird in den verschiedensten Zweigen der Konservierungs-, Desinfektions- und Sterilisationspraxis vorgeschlagen bezw. durchgeführt. So verwendet man diese Methodik besonders in neuerer Zeit für die Nahrungsmittel-Konservierung, die in die Gärungsvorgänge eingreifenden bezw. die Haltbarkeit in Frage stellenden Keime zu schädigen. Die einfachen Konservierungsmethoden erreichen hierbei vielfach nur begrenzte Haltbarkeit, oder aber sie gehen mit unerwünschten Veränderungen der Lebensmittel einher. So vermag die Kälte mit zusätzlichem Herabdrücken der relativen Luftfeuchtigkeit eine Konservierung nur unter starkem Gewichtsverlust des Kühlgutes zu erreichen; die Schädigungen durch Hitze sind mannigfacher Art und beziehen sich im wesentlichen auf Veränderungen von Geruch, Geschmack und Beinflussung des Vitamingehaltes. Kälte in Verbindung mit chemischen Faktoren, die den Anfangskeimgehalt herabdrücken oder bei wiederholter Anwendung wenigstens eine Keimvermehrung verhüten, hat in der neueren Konservierungspraxis bereits sichtbare Erfolge gezeitigt. Als zusätzliche chemisch wirkende Stoffe kommen in erster Linie Gase in Frage, die keine für die menschliche Gesundheit nachteiligen Wirkungen im Gefolge haben. Untersuchungen dieser Art mit Ozon und Kälte (Schwartz 28) haben für die Fleischkonservierung eine Steigerung der Haltbarkeit um 25 bis 30 % ergeben. Ähnlich erfolgreiche Versuche wurden in England mit Kälte und Kohlensäurevergasung durchgeführt. Bei der Obst- und Früchtelagerung ergaben Kälte- und Gaseinwirkung bei erhöhtem CO_2 und vermindertem O_2-Gehalt neben Verzögerung der Stoffwechselvorgänge und damit längerer Lebensdauer auch eine erhebliche Resistenzerhöhung gegen Pilze. Mit diesem Verfahren konnten die Verluste durch Fäulnis um über 30 % eingeschränkt werden. Diese Tatsachen verdienen im Hinblick auf die

praktisch fast unveränderte Beschaffenheit und verlängerte Haltbarkeitt von Nahrungsmitteln weitgehendste Beachtung.

2. Desinfektionsmethoden.

Auch in der Desinfektions-Praxis werden kombinierte Methoden der Keimabtötung angewandt. Ein altbekanntes Beispiel ist das Formaldehydvakuumverfahren (35,39), wobei der Formalinzusatz eine wesentliche Herabsetzung der Dampftemperatur auf 50 bis 70 Grad gestattet. Gegen höhere Dampftemperaturen empfindliche Gegenstände können auf diese Weise einer wirksamen Desinfektion unterzogen werden. — In diesem Zusammenhang sei auch auf Gundels Versuche (3), die Sporenabtötung betreffend, hingewiesen. Von praktischen Gesichtspunkten größtmöglicher Materialschonung ausgehend, empfiehlt dieser Autor auf Grund seiner Versuchsergebnisse die kombinierte Anwendung langdauernder niederer Hitzegrade und sehr geringer Konzentration chemischer Desinfektionsmittel zur Entkeimung empfindlichen, milzbrandverdächtigen Materials (Borsten- und Fellverarbeitung). Nach einigen tastenden Vorversuchen soll die Verwendung dieser Methode auch zur Behandlung der Gerbereiabwässer sehr aussichtsreich sein. Gundels Versuche mit Heubazillen-, Kartoffelbazillen- und Milzbrandsporen ergaben sowohl im Emulsions- wie im Keimträgerverfahren bei Temperaturen von 50, 60 und 70 Grad und bei Einwirkung geringprozentiger Desinfektionsmittel (0,1 pro mille $HgCl_2$, 0,3 pro mille $HgCl_2$, 0,1 % Formalin und Chloraminverdünnungen) relativ kurze und praktisch zu verwirklichende Abtötungszeiten. So wurden z. B. an Seidenfäden angetrocknete Milzbrandsporen in 0,3 ‰ $HgCl_2$ oder 0,3 %iger Formalinlösung bei 50 Grad (Wasserbad) schon nach einer Stunde abgetötet. Die Nachkultur erfolgte jeweils in optimalen flüssigen Nährböden bei 14-tägiger Beobachtung und Brutschranktemperatur. Die gleichzeitig angestellten Kontrollversuche (Milzbrandseidenfäden bei 50 und 60 Grad in physiologischer NaCl, — Einwirkung der Desinfektionsflüssigkeit bei Zimmertemperatur) ergaben schon nach 24 Stunden Wachstum. Die kulturellen Ergebnisse wurden durch ergänzende Tierversuche bestätigt. Auch diese Resultate sprechen für die praktische Verwendbarkeit kombinierter Methoden sowohl hinsichtlich des Desinfektionseffektes, wie auch aus Gründen der Schonung des Desinfektionsgutes.

3. Sterilisationsverfahren.

Während die Verbandstoffsterilisation entsprechende Apparate zur Voraussetzung hat und demnach dem Kliniks- bezw. Krankenhausbetrieb vorbehalten bleibt, müssen für die Instrumentensterilisation dem Praktiker einfachere und doch sichere Methoden zur Verfügung stehen. In neuester Zeit hat man insbesondere auch versucht, das noch ungelöste Problem der Instrumentensterilisation in der Praxis durch Anwendung der kombinierten Verfahren einer Lösung zuzuführen, wobei als Ausgangspunkt das altgebräuchliche Verfahren von Hitze und Soda diente.

Man ging dabei verschiedene Wege. So versuchte man z. B. durch kurze Anwendung höher siedender Flüssigkeiten zum Ziel zu kommen. Die mit nicht wässerigen, bezw. wasserarmen Flüssigkeiten durchgeführten Versuche dieser Art ergaben jedoch, daß sowohl die Wirkung des Ölbades von 200 Grad wie die des Glyzerins von 120 bis 140 Grad nur der trockenen Hitze derselben Temperatur gleichzusetzen ist. Dirska (1) empfiehlt für die Sterilisation komplizierter zahnärztlicher Instrumente die kombinierte Anwendung reinen wasserfreien Glyzerins mit 10% Sagrotan, Huldermann (6) mit Baktolzusatz bei 95 Grad. Auf Grund der Versuche wird mit diesen Verfahren innerhalb 10 Minuten absolute Sterilität erreicht. Es soll bei Schonung der Instrumente in der Praxis gut durchführbar sein. Wegen des Eindickens ist nach längerem Gebrauch eine Erneuerung des Glyzerins erforderlich. Dieser wie auch andere Nachteile, besonders der unerträgliche Geruch erhitzten Glyzerins, haben wohl von einer allgemeineren Anwendung dieses Verfahrens Abstand nehmen lassen. Ähnliche Nachteile birgt auch die Verwendung des Ölbades in sich. Auch hier machen sich neben einer allmählichen Eindickung die Ölausdünstungen unangenehm bemerkbar. Weiterhin kann sich das Öl sehr gut als Schutzmantel für Mikroorganismen auswirken, so daß sich aus all diesen Gründen auch dieses Verfahren nicht bewährt hat. Das Frigosterilverfahren mit bewegter Heißluft von 195 Grad hat nach den vorliegenden Begutachtungen zwar gute Ergebnisse und hat sich auch bei manchem Praktiker der Zahnheilkunde eingeführt. Aber es stellt besondere Anforderungen an das Material, um dessen Brüchigwerden zu verhindern.

So ist man denn eigentlich meist bei dem schon von Schimmelbusch (1892 (25) angegebenen Abkochverfahren der vorher gereinigten Instrumente geblieben. Man war sich schon damals auf Grund von Desinfektionsversuchen nach dem Keimträgerverfahren (Schimmelbusch) klar, daß der Sodazusatz nicht nur rostverhütende, sondern auch eine die Abtötungskraft des kochenden Wassers verstärkende Wirkung hat. Nur war diese Methode mit der Forderung 5 Minuten langer Kochdauer bei Verwendung einer 1%igen Sodalösung knapp auf die Abtötung von Milzbrandsporen eingestellt.

II. Kritische Betrachtung der bisherigen experimentellen Grundlagen der Keimabtötung.

(Testmaterial, Versuchsmethodik, Versuchsergebnisse)

Im Interesse größtmöglicher Vorbeugung und Sicherheit ist für Instrumente absolute Keimfreiheit, d. h. Vernichtung auch der widerstandsfähigsten Dauerformen zu verlangen. Maßgebend für diese Forderung ist die Erkenntnis, daß die Einteilung in pathogene und apathogene Keime nur eine relative ist. Nach den Erkenntnissen über Symbiose, Synergismus und Metabiose der Bakterien kann die gleichzeitige Anwesenheit von saprophytischen Keimen neben pathogenen Erregern nicht gleichgültig sein. Für das Zustandekommen der Infektionen durch Anaerobier spielt die Zersetzung nekrotischen Gewebes entschieden eine Rolle. Diese Hinweise mögen genügen. Es sei nur noch daran erinnert, daß bei gegebener Disposition auch mit einer Virulenz von Keimen zu rechnen ist, die zu den gewöhnlichen saprophytären Bewohnern des menschlichen Körpers zählen. Die Infektiosität hochresistenter Luft- und Erdsporen für sich allein hat sich in den Tierversuchen von Peltret (21) und Sobernheim (29) zwar nicht erwiesen, jedoch lassen sich Schlüsse vom Tierexperiment nur mit Vorsicht auf den Menschen übertragen. Für den Bac. mesentericus soll es erwiesen sein, daß er in Kombination mit nicht pathogenen Streptokokken schwere Muskelnekrosen hervorrufen kann (38). Es ist daher heute eine allgemein anerkannte Forderung, zu Sterilitätsprüfungen die widerstandsfähigsten Bakteriensporen, d. h. die in gedüngtem Ackerboden vorkommenden nativen Erdsporen als Testmaterial zu benutzen. Noch strengere Forderungen haben bisher in der Praxis noch keinen Eingang gefunden. So hat z. B. Knorr (10) verlangt, gewisse noch resistentere

Aktinomycetensporen als Testmaterial zu verwenden. Nach Untersuchungen Manigolds (19) sollen auch Bakterien mesophiler Art die Erdsporen an Resistenz übertreffen.

Ausgehend von der Forderung, auch im ungünstigsten Fall, also z. B. bei Anwesenheit höchstresistenter Erdsporen, unbedingte Sterilität zu erreichen, lehnt Konrich (11 – 15) das Kochverfahren mit Sodalösung als unzureichend ab. Die Einwirkungszeit der Abtötung widerstandsfähigster Keime soll mit diesem Verfahren immer mehrere Stunden betragen. Er verlangt daher ebenso wie für Verbandstoffe auch hier Einführung der Hochdrucksterilisation. Die Nachprüfung dieser Konrich'schen Feststellungen, besonders von Sobernheim (29 – 32) durchgeführt, ergab völlig abweichende und für das bisherige Verfahren sprechende Resultate. So kommt Sobernheim auf Grund seiner experimentellen Erfahrungen zu dem Schluß, daß „das Auskochen der Instrumente in 1 – 2%iger Sodalösung, 1/2 Stunde, eine ausreichende Sicherheit gewährt". Doch zeigt schon das Ausgangstestmaterial beider Autoren erhebliche Resistenzunterschiede. Diese Differenzen sollen nach Angabe der Autoren teils durch verschiedene physikalisch-chemische Faktoren (Sobernheim 32, Rahn 22 u. a.), teils durch Art- und Stammunterschiede des Testmaterials teils durch quantitative Verhältnisse der Erd- und Sporenmengen zu erklären sein (Konrich 14). Zweifellos spielt aber auch die Prüfungstechnik bei den stark verschiedenen, zwischen 14 und 60 Stunden liegenden Resistenzunterschieden eine nicht zu unterschätzende Rolle. So gelang es z. B. Sobernheim (30), mit einer von Konrich zur Verfügung gestellten Erde von 60 Stunden Dampfresistenz (von K. bestimmt) durch Kochen in Sodalösung in fast noch kürzerer Zeit Sterilität zu erreichen, als mit seinen etwa 14 Stunden Dampfresistenz zeigenden nativen Erdsporen. Von mir ausgeführte Dampfresistenzprüfungen mit verschieden großen Mengen der gleichen Erde ergaben bei gleicher Versuchsanordnung:

0,1 g fein gepulverter, gedüngter Gartenerde eine Dampfresistenz zwischen 6 und 7 Stunden

0,5 g derselben Erde unter gleichen Bedingungen eine solche zwischen 13 und 14 Stunden.

Die Resistenzprüfung von 0,1 g Erde mit 0,4 g steriler Erde der gleichen Art durchmischt, ergab eine ebenfalls zwischen 6 und 7 Stunden liegende Dampfresistenz.

Konrichs (15) Forderung, nicht wahllos jede beliebige Erde und nur native Erdsporen von mindestens 20 Stunden Resistenz als Testmaterial zu benutzen kann erst dann Anspruch auf Allgemeingültigkeit haben, wenn auch diese bisher vernachlässigten Faktoren der Prüfungstechnik berücksichtigt sind. Auch dann erst wäre zu entscheiden, ob die von einigen Autoren (Sobernheim 32, Rahn 22) erhobene Forderung, statt der höchst ungleichmäßigen nativen Erdsporen die weniger resistenten Kulturerdesporen im Keimträger- oder Emulsionsverfahren als Testmaterial zu benutzen, berechtigt ist. Auch liegen bisher noch keine Bestätigungen von anderer Seite vor, daß es gelänge, Kultursporen durch Antrocknen an Erde die ursprüngliche Resistenz der nativen Sporen zu verleihen. Solange also keine volle Einigkeit über die Anforderungen an ein Testmaterial bezw. keine einheitliche Versuchstechnik besteht, können vergleichbare Desinfektion- und Sterilisationsversuche nur unter Beschreibung der jeweiligen Versuchsbedingungen bei ungefähr gleicher Ausgangskeimzahl und unter möglichster Annäherung an die grundsätzlichen Anforderungen durchgeführt werden.

Durch die widersprechenden Ergebnisse Konrichs und Sobernheims, die Sporenabtötung betreffend, veranlaßt, wurde von den verschiedensten Seiten das Problem erneut aufgegriffen. Je nach Versuchsanordnung und -technik kam man dabei zu verschiedenen Resultaten. So fand Gajzago (2) mittels der Keimträgermethode (an Seidenfäden angetrocknete Erdsporen), daß durch Sodazusatz zwar eine Steigerung der Desinfektionskraft des kochenden Wassers, aber niemals innerhalb praktisch verwertbarer Zeiten völlige Sterilität erreicht wurde. Zwar erfolgte in kurzer Zeit Abtötung der vegetativen Formen der Bakterien und der Milzbrandsporen, doch nie der Erdsporen. Diese verlangten zur Abtötung mehrstündige Einwirkung konzentrierter Sodalösungen. Bei dem Versuch, durch neue Kombinationen physikalisch-chemischer Mittel zum Ziel zu kommen, erreichte er bei Verwendung von 1% kochender Na OH schon nach 10 Minuten Sterilität. Eine Verstärkung der sporentötenden Wirkung ohne Hitze gelang durch Anwendung verschiedener chemischer Mittel. Das beste Resultat erzielte G. bei kombinierter Anwendung von 70% Alkohol, 3% Formaldehyd und 1% Na OH. Dieses Verfahren eignet sich jedoch nicht für die Praxis, da der Laugenzusatz instrumentenschädigend und nachteilig auf die Messerschärfe wirkt. Außerdem

macht der Formaldehydzusatz ein Auswaschen mit sterilem Aq. dest. erforderlich. Neben der Umständlichkeit des Verfahrens wird hierdurch mehr oder weniger wieder die vorher erreichte Sterilität in Frage gestellt. So fordert denn auch G. auf Grund seiner Untersuchungen für die Instrumenten-Sterilisation die Einführung der Hochdrucksterilisation (s. a. Hanne 4, Killian 7, Konrich 12, 13, Sobernheim 30, 31).

Auf breitester Basis wurden diese Fragen durch die bakteriologischen Untersuchungsstellen (34) des Heeres in Angriff genommen. Unter möglichster Anpassung an die praktischen Verhältnisse sollte neben der Nachprüfung der Kochmethode mit Sodalösung auch versucht werden, eventuell auf anderem Wege zum Ziel zu kommen. Bei den Versuchen wurden chirurgische Instrumente (Pinzetten, Arterienklemmen, Kornzangen und Scheren) mit Staphylokokken, Tetanus-, Gasbrand- und Erdsporen beladen (in physiol. Na Cl bzw. in Blut aufgeschwemmt — in frischem und angetrocknetem Zustand) und nach kurzer mechanischer Reinigung verschieden prozentigen Sodalösungen, 5%iger Kresolseifenlösung und 5%iger Karbolsäurelösung bei Siedetemperatur ausgesetzt. Außerdem wurde es den einzelnen Untersuchungsstellen freigestellt, unter Berücksichtigung der nachteiligen Faktoren (schlechte Wasserlöslichkeit, Geruchsbelästigung, Instrumentenschädigung usw.) mit andern Desinfektionsmitteln nach Ermessen zu arbeiten.

Die mechanische Reinigung allein führte niemals zur Sterilität. Auch das einfache Auskochen mit Wasser ergab trotz mechanischer Vorbehandlung keine praktisch verwertbaren Zeiten der Keimabtötung. Weit günstiger fielen die Versuche mit Desinfektionsmittelzusätzen aus. Die Nachprüfung der Konrich-Sobernheim'schen Kochversuche mit Sodalösungen führte zu keinem einheitlichen Ergebnis, trotzdem man an den verschiedenen Stellen die gleiche vom R. G. A. (Konrich) zur Verfügung gestellte Erde als Ausgangsmaterial benutzte. Drei der Untersucher kamen bei einer Kochdauer von 30 Minuten selbst mit 5% Sodalösung nicht zum Ziel. Ein vierter gelangte mit 3 und 10% Sodalösung bei 20 Minuten Kochdauer zu dem gleichen negativen Ergebnis. Zu praktisch verwertbaren Abtötungszeiten kamen nur 2 Untersuchungsstellen, und zwar erreichte man einmal Abtötung aller Keime nach 15 Minuten Kochdauer mit 5%

Sodalösung, das andere Mal mit 2% Sodalösung nach 30 Minuten Kochdauer. Eine wesentliche Zeitabkürzung gelang letzterem Untersucher durch vorheriges 10 Minuten langes Einlegen der infizierten Instrumente in kalte bezw. auf 40 Grad erwärmte 2% Sodalösung. Auf diese Art konnte schon nach 20 Minuten Sterilität erreicht werden. Die praktische Verwendung von Kresol- und Karbolseifenlösung verbot sich von selbst durch die nachteiligen Begleiterscheinungen, wie die unangenehmen Geruchsbelästigungen, starkes Schäumen und die starke Instrumentenschädigung. Auch die Mehrzahl der anderen verwendeten Desinfektionsmittel mußte dieser und ähnlicher Nachteile wegen, meist auch wegen der schlechten sporentötenden Wirkung, von der praktischen Verwendung ausgeschlossen werden. Als erfolgversprechend und der weiteren Nachprüfung wert erwiesen sich der Zusatz von Baktol und Sagrotan (s. a. Konrich 14).

III. Eigene Versuche.

1. Versuchsmethodik.

Die Divergenz in den Versuchsergebnissen von Sobernheim und Konrich gab die Veranlassung, auf experimentellem Wege durch Kochversuche mit nativen Erdsporen selbst ein Urteil über die Wirkungssteigerung dieser physikalischen Methode durch chemische Zusätze zu gewinnen. Neben der Nachprüfung des Wirkungsgrades verschieden prozentiger kochender Sodalösungen wurde in vorliegender Arbeit vergleichsweise die Wirkung verschiedenprozentiger Baktol-, Sagrotan- und Zephirollösungen bei 70° und bei Siedetemperatur nachgeprüft. Nach Kliewe und Mayer eignen sich auch das Lysol und Lavasteril zur Instrumentendesinfektion. Inwieweit durch Kombination mit dem Kochprozeß diese Desinfektionsmittel sich zur Instrumentensterilisation eignen, müssen weitere Versuche ergeben.

Als Testmaterial für die folgenden Versuche wurde gedüngte Gießener Gartenerde verwendet. Ihre Dampfresistenz lag zwischen 13 und 14 Stunden und wurde wie folgt ermittelt:

Die getrocknete und fein pulverisierte Erde wurde zu je 0,5 g in Filtrierpapier gefüllt und in Watte und Leinensäckchen verpackt 100 grädigem strömendem, ungespanntem Dampf ausgesetzt. Von Stunde zu Stunde wurde eines der Päckchen entnommen, jeweils

die gesamte Erdmenge in Zentrifugenröhrchen gefüllt, mit 2 % Trbz.-Bouillon überschichtet und 10 Tage bei Brutschranktemperatur beobachtet.

Die Versuche selbst wurden unter möglichster Vermeidung aller Fehlerquellen folgendermaßen durchgeführt:

Das Testmaterial, jeweils 0,5 g Erde, wurde mit Hilfe eines Trichters mit langem bis zum Boden reichenden Ansatzrohr in einen sterilen 500 ccm fassenden Erlmeyerkolben gefüllt. Sodann wurde die jeweils frisch mit sterilem Leitungswasser angesetzte Desinfektionslösung (200 ccm) eingefüllt und das ganze bei großer Flamme zum Kochen gebracht. Zeitdauer etwa 5 Minuten. Vom Beginn des Siedens an wurde bei kleiner Flamme auf gleichmäßiges Kochen geachtet und von diesem Moment ab die Einwirkungsdauer gerechnet. Die Konzentration der Desinfektionslösung wurde durch Kondensation der Dämpfe in sterilem Rücklaufkühlrohr konstant gehalten. Verschiedentlich vorgenommene Sterilitätsprüfungen des Kühlsystems nach Durchführung der Kochversuche ergaben Keimfreiheit. Es wurden also keine Erdsporen mit dem Dampf hochgerissen, die, vorübergehend dem Kochprozeß entzogen, durch Rücklauf in die kochende Flüssigkeit einen Versuchsfehler hätten ergeben können. Durch dieses Verfahren konnten die Konzentration der Lösung konstant gehalten und die bisherigen ungenauen Methoden des Auffüllens der verdampften Flüssigkeit verbessert werden. Die Fehlerquelle, die durch die an den Randteilen des Gefäßes haftenden und nicht dem Kochprozeß unterworfenen Erdteilchen entstehen kann, wurde durch die Art des Einfüllens und ferner dadurch vermieden, daß jeder Versuch in einer Reihe von Parallelkolben gleichzeitig angesetzt wurde und jeder Kolben nur zu einer einmaligen Entnahme der Versuchsprobe diente.

Die Entnahme selbst erfolgte nach Abnehmen des Kolbens vom Kühlsystem unter starkem Umschwenken mittels steriler 10 ccm Pipette. Es wurden jeweils 7 ccm der Erdaufschwemmung entnommen und nach kurzem Absitzenlassen in Zentrifugenröhrchen 2 mal mit sterilem Aqua dest. ausgewaschen.

Die Nachkultur erfolgte in 2%iger Trbz.-Bouillon bei Brutschranktemperatur und 10 täg. Beobachtung. Zweifelhaftes Wachstum wurde durch weitere Differenzierung auf entsprechenden Nährböden

und durch mikroskopische Präparate geklärt. Orientierende Versuche mit Leberbouillon als Nährboden ergaben innerhalb der in Frage kommenden Zeitgrenzen niemals Wachstum, sodaß die Nachkultur für Anaerobier unterbleiben konnte.

Die Erhitzung auf 70 Grad erfolgte zunächst über der Flamme. (Dauer ca. 3 Minuten). Die Temperatur wurde weiterhin durch Eintauchen des Erlmeyerkolbens in ein Wasserbad von 70 Grad konstant gehalten. Auch hier wurde die Einwirkungszeit vom Moment der Erreichung der gewünschten Temperatur ab gerechnet.

2. Versuchsergebnisse.

Um die kombinierte Wirkung höherer Temperatur mit Desinfektionsmitteln beurteilen zu können, wurden zunächst die beiden Einzelkomponenten in ihrer Wirkung auf das Testmaterial geprüft.

Trotz 9-stündiger Einwirkung erhitzten Wassers von 70° konnte in dieser Zeit keine Abtötung erreicht werden. Die Resistenz der verwendeten Erde gegen siedendes Wasser lag bei der Versuchsanordnung zwischen 90 und 120 Minuten.

Als Desinfektionsmittel kamen Soda (25, 11-15, 29-32, 35), Soda und Formalin (31), (1 ccm Formalin auf 1 Liter, nach Sobernheim in dieser Menge nicht instrumentenschädigend, aber die Abtötungszeit verkürzend), Sagrotan (1, 68, 16, 17, 18 und 34), Baktol (23, 24, 16, 17, 6, 9, 18, 34) und Zephirol (9, 18, 5, 27, 34) in verschiedenen Verdünnungen zur Anwendung. Ihre Wirkung bei Zimmertemperatur geht aus der folgenden Tabelle hervor:

Einwirkungsdauer

	%	5'	10'	15'	20'	30'	10 Tage
1. Soda:	1%	+	+	+	+	+	+
	2%	+	+	+	+	+	+
	3%	+	+	+	+	+	+
2. Soda + Formalin	1% + 0,01%	+	+	+	+	+	+
Soda + Formalin	2% + 0,01%	+	+	+	+	+	+
3. Sagrotan	2,5%	+	+	+	+	+	+
	5%	+	+	+	+	+	+
4. Baktol	2,5%	+	+	+	+	+	+
	5%	+	+	+	+	+	+
5. Zephirol	0,5%	+	+	+	+	—	—
	1%	—	—	—	—	—	—

+ = Wachstum

— = Sterilität

Zephirol nimmt insofern eine Sonderstellung ein, als schon eine geringprozentige Lösung innerhalb praktisch verwertbarer Zeiten bei Zimmertemperatur zu Sporenabtötung führt. Schon mit der 0,5%igen Lösung konnte nach 10, 15 und 20 Minuten eine deutliche Wachstumshemmung festgestellt werden. Erst nach dreitägiger Nachkultur trat in diesen Fällen Wachstum auf. Bei Verwendung einer 1%igen Lösung trat sogar schon nach einer Einwirkung von 5 Minuten völlige Sterilität ein. Auch ein mehrmaliges Auswaschen der Desinfektionslösung ergab keine abweichenden Resultate. Ähnliche Ergebnisse erzielte Hornung (5) mit einem Erdsporen-Testmaterial von 18 Stunden Dampfresistenz. Bereits nach 15-min. Einwirkung von 0,5% Zephirol konnte er kein Wachstum mehr feststellen.

Die zusätzliche Erhitzung auf 70° ergab selbst für höher prozentige Lösungen von Soda, Sagrotan und Baktol keine praktisch verwertbare Abkürzung der Keimabtötung. So konnte z. B. mit 5%iger Baktol- oder Sagrotan-Lösung sowie mit 2%iger Sodalösung selbst nach 9-stündiger kombinierter Einwirkung keine Sterilität und nur geringgradige Wachstumshemmung erzielt werden. Durch 2%ige Sodalösung plus Formalinzusatz (0,01%) trat erst nach 5 Stunden Einwirkungsdauer Sterilität ein.

Für Zephirol liegen auch hier die Verhältnisse wieder gesondert. Unter gleichen Bedingungen gelang es, selbst mit 0,5%iger Lösung, nach 5 Minuten Sterilität zu erzielen. Nach einer Mitteilung der Fa. Bayer haben Versuche am Hygienischen Institut Kiel ähnliche Resultate ergeben. Mit widerstandsfähigen Erdsporen als Testmaterial erzielte man dort mit einer 1%igen Zephirol-Lösung nach 2 Minuten Hitzeeinwirkung schon bei 50° eine erhebliche Sporenabtötung. Nach 5 Minuten (75°) waren die meisten Sporen abgetötet, nach 8 Minuten bei 100° völlige Sterilität erreicht. Die Angaben von Thomann und Geschwind (34)[1], „daß sporenhaltige Bakterienstoffe (z. B. in Ackererde) durch 1/2-stündiges Erhitzen im strömenden Dampf von 100° wirksamer abgetötet wurden, als durch 2-stündiges Einlegen in 1%ige Zephirollösung" haben durch die hier durchgeführten Versuche keine Bestätigung gefunden. Die Wirkung verschiedenprozentiger kochender Sodalösungen

[1]) Originalarbeit stand nicht zur Verfügung. Mitteilung der Firma Bayer, Leverkusen.

und anderer siedender Desinfektionsmittel auf native Erdsporen als Testmaterial ergibt sich, für die jeweilige Konzentration und Zeit in einer Breite von 10 Versuchen durchgeführt, aus folgender Tabelle:

Desinf. Lösung	%	Kochdauer	Von 10 gleichartigen Versuchen zeigten:	
			Wachstum	Sterilität
1. Soda	1%	10'	7	3
		15'	—	10
	2%	10'	3	7
		15'	—	10
	3%	5'	3	7
2. Soda	1%	5'	1	9
+ Formalin	0,01%	10'	—	10
3. Sagrotan	2,5%	25'	2	8
		30'	—	10
	5%	10'	7	3
		15'	6	4
		20'	—	10
4. Baktol	2,5%	40'	6	4
		45'	—	9
	5%	15'	3	7
		20'	—	10

Mit Zephirol wurden keine Kochversuche durchgeführt, da schon bei 70° mit sehr geringprozentigen Lösungen und bei kurzer Einwirkung Sterilität erreicht wurde.

Die kombinierte Einwirkung von Desinfektionslösungen mit dem Kochprozeß bedingt also eine wesentliche Beschleunigung der Keimabtötung im Vergleich zur alleinigen Wirkung einer der Einzelkomponenten. Entgegen den Feststellungen Konrichs und

übereinstimmend mit Sobernheim liegen bei unserem Testmaterial die Abtötungszeiten für Sodalösung absolut innerhalb praktisch verwertbarer Grenzen. Sobernheims Standpunkt, daß „das Auskochen der Instrumente in 1—2%iger Sodalösung 1/2 Stunde eine ausreichende Sicherheit gewährt", (31) dürfte, besonders im Hinblick auf die in Wirklichkeit nie so ungünstig liegenden praktischen Verhältnisse genügen. Ebenfalls in Übereinstimmung mit Sobernheim führt schon ein Formalinzusatz von 0,01% zu einer weiteren Verkürzung der Abtötungszeit.

Die Nachprüfung der nach Konrich (14) evtl. als Sodaersatz in Frage kommenden Desinfektionsmittel Baktol und Sagrotan ergaben nur bedingt befriedigende Resultate. Abgesehen von den etwas höher liegenden Abtötungszeiten lassen das starke Schäumen und — wegen der zur Verwendung kommenden höherprozentigen Lösungen — auch der Preis von der Verwendung dieser Desinfektionsmittel wohl Abstand nehmen.

Dagegen scheint sich auch nach den hier durchgeführten Versuchen Zephirol mit 0,5%igem Natriumnitritzusatz zur Rostverhütung (Angabe der Fa. Bayer) als zweckmäßig zu erweisen. Zur Schnelldesinfektion empfiehlt die Herstellerfirma 15—30 min. Einlegen der Instrumente in 10%ige Zephirol-Lösung. Nach dieser Zeit soll praktisch Entkeimung eingetreten sein.

Durch zusätzliche Anwendung höherer Temperaturen gelingt es, auch mit niedriger %igen Lösungen bei kurzer Einwirkungsdauer Sterilität zu erreichen. Die Verwendung von Temperaturen unter 100° ermöglicht es, das eigentlich mehr oder weniger bei allen Desinfektionsmitteln einschließlich des Sodas auftretende und sich unangenehm bemerkbar machende Schäumen sowie stärkere Geruchsbelästigungen zu umgehen. Für Zephirol scheint dieser Weg unter den hier gegebenen Versuchsbedingungen durchaus gangbar. Zweifellos wird man durch Steigerung von Temperatur und Konzentration noch höhere Anforderungen an dieses Verfahren stellen können. Inwieweit man mit dieser Methode praktisch zum Ziel kommt, müßten weitere Versuche unter möglichster Anlehnung an die praktischen Verhältnisse zeigen.

Grundsätzlich führt die Verwendung kombinierter Methoden schneller zur Keimabtötung, als eine der angewandten Einzelkomponenten. Je nach den Anforderungen wird man durch

Kombination jeweils geeigneter physikalischer und chemischer Mittel auch praktisch sehr oft zum Ziel kommen und damit teure und umständliche Verfahren umgehen können.

Zusammenfassung

1. Nach einem kurzen Überblick über die Verwendung bezw. Verwendungsmöglichkeit kombinierter (physikalischer und chemischer) Methoden im Dienste der Keimschädigung oder Keimvernichtung folgt eine kritische Besprechung der bisher vorliegenden experimentellen Versuche.

2. In eigenen experimentellen Versuchen, die z. T. der Nachprüfung vorliegender Ergebnisse dienten, wurde die Einwirkung von feuchter Hitze (70° bezw. 100°) verglichen mit feuchter Hitze derselben Temperatur unter Zusatz verschiedener Mengen von Soda, Soda + Formalin (0,01%), Sagrotan, Baktol und Zephirol. Als Testmaterial dienten native Erdsporen von einer Dampfresistenz (100°) zwischen 13 und 14 Stunden. Die verbesserte Versuchsmethodik einschließlich der Resistenzbestimmung wird beschrieben. Die Nachkultur erfolgte in 2%iger Traubenzuckerbrühe mit 10tägiger Beobachtungsdauer. Unter diesen Bedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

a) mit Ausnahme des Zephirols, das schon in 1%iger Lösung bei Zimmertemperatur nach 5 Minuten Einwirkungsdauer Sterilität ergab, wurde weder mit feuchter Hitze (70 und 100°) noch mit den angegebenen Desinfektionsmitteln allein innerhalb praktisch in Frage kommender Zeiten Sterilität erreicht.

b) 1 und 2%ige Sodalösung und 5%ige Baktol- und Sagrotan-Lösung von 70° erzielten bei 9-stündiger Einwirkung noch keine Sterilität, 2%iges Soda + Formalinzusatz (0,01%) erst nach 5 Stunden. Dagegen führte eine 0,5%ige Zephirollösung von gleicher Temperatur schon nach 5 Minuten Einwirkungsdauer zur Sterilität.

c) Kochende 1—2%ige Sodalösung ergab nach 15 Minuten in allen Fällen Sterilität. Durch Zusatz geringer Formalinmengen läßt sich diese Zeit noch abkürzen. Mit 2,5%igen kochenden Sagrotan- und Baktollösungen konnte erst nach

30 Minuten bezw. nach 45 Minuten Sterilität erreicht werden. 5%ige Lösungen ergaben für beide Desinfektionsmittel nach 20 Minuten in allen Fällen Sterilität. Trotz dieser Wirkung ist Baktol und Sagrotan wegen des starken Schäumens ungeeignet für Verwendung bei Kochtemperatur.

Literatur

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Seiser meinen besonderen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas und die freundlichen Hinweise während der Bearbeitung.

1. Dirska, Ein Beitrag zur Lösung der Sterilisationsfrage komplizierter zahnärztlicher Instrumente. Zbl. Bakt. I. Orig. Bd. 87, H. 5, 1921.
2. Gazzago, Untersuchungen zur Verbesserung der chirurgischen Aseptik. Zbl. Bakt. I. Orig. Bd. 135 H. 6, 1935, S. 370
3. Gundel: Untersuchungen über die Abtötung von Milzbrandsporen durch schonende Verfahren und ihre Bedeutung für die Praxis. (Zentralblatt für Gewerbehygiene und Unfallverhütung, (XVI. Jg. N. F. Bd. 6, 1929, H. 12.)
4. Hanne, Sterilisation rund um den Operationstisch. DMW. 1936, S. 589.
5. Hornung, Zephirol, ein neues Desinfektionsmittel. Ztschr. Imm. Fschg. Bd. 84, H. 2–3, 1935, DMW. 1936. Nr. 25, S. 1006.
6. Huldermann: Experimentelle Untersuchungen über die in der zahnärztlichen Praxis am meisten verwandten Desinfektionsmittel. Inaug. Diss. Hamburg 1933.
7. Killian: Zuverlässigkeit der Instrumentensterilisation. Med. Welt, Nr. 44, 1932, S. 1591.
8. Kliewe, Über die Bedingung der Widerstandsfähigkeit von Bakteriensporen gegen Erhitzung. Ztsch, Hyg. und Inf. Krankheiten Bd. 103, 1924, S. 733.
9. Kliewe und Mayer: Vergleichende Untersuchungen über die gebräuchlichen Desinfektionsmittel. MMW. Nr. 8, 1936

10. Knorr; Über die wiederstandsfähigen Keime in Sterilisationsproben. Zbl. Bakt. Bd. 127, 1933, S. 626.

11. Konrich und Cohn. Zur Instrumentensterilisierung. Arch. f. klin. Chirurgie, Bd. 166, 1931, S. 266.

12. Konrich" Sterilisieren wir unsere Instrumente? DMW. Nr. 19, 1932.

13. Konrich" Zur Instrumentensterilisierung. Med. Welt, Nr. 9, S. 317, 1933.

14. Konrich: Vorkommen und Resistenz hochresistenter Erdsporen mit besonderer Berücksichtigung der Instrumentensterilisation. Arb. a. d. RGA. H. 1, 1935, S. 81.

15. Konrich, Desinfektion, Sterilisation, Entwesung. Lehrbuch d. Militärhygiene v. Waldmann-Hoffmann, 1936.

16. Laubenheimer, Neuere Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des „Sagrotan". Med. Klinik Nr. 14, 1933.

17. Laubenheimer, Neuere Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des „Sagrotan". Med. Klinik Nr. 47, 1933.

18. Maier, E. und Müller, E.", Die Wirksamkeit der gebräuchlichsten Desinfektionsmittel. Fortschritte d. Therapie, H. 4, 1936.

19. Manigold, K. H. Über die überlebenden Bazillen in Sterilisationsproben. Arch. Hyg. Bd. 112, 1934, S. 333.

20. Martin" Sind Chemikalien beim Sterilisieren von Instrumenten durch Auskochen nötig? Zbl. ges. Hyg. Bd. 30, 1934.

21. Peltret, Können „apathogene" Luftsporen Wundinfektionen erzeugen oder begünstigen? Zbl. Bakt. Bd. 126, 1932, S. 465.

22. Rahn, Otto, Der Einfluß von Quarzsand auf Bakterienkulturen. Zbl. Bakt. 2. Orig. Bd. 32. 1912, S. 201.

23. Reploh, Desinfektionsversuche mit Baktol. Med. Klinik, 1932, Nr. 45.

24. Reploh, Neuere Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des Sagrotans (Stellungnahme zur gleichnamigen Arbeit von Laubenheimer). Med. Klinik, Jg. 33, Nr. 27, 1933.

25. Schimmelbusch, Anleitung zur aseptischen Wundbehandlung. (Kap. 2, Steril. der Metallinstrumente) Berlin, 1892.

26. Stich, Bakteriologie und Sterilisation im Apothekenbetrieb. Berlin 1918.

27. Schmidt, W., Praktische Erfahrungen mit dem neuen Desinfektionsmittel Zephirol. Med. Welt, Nr. 29, 1935.

28. Schwartz, W., Biologie in der Lebensmittelkonservierung. Ztschr. f. Angew. Chemie, 48 Jg. Nr. 40, 1935, S. 629.

29. Sobernheim, Altes und Neues über Desinfektion und Sterilisation. Schweiz. Med. Wochensch. 62, Jg. 1932, Nr. 31, S. 701.

30. Sobernheim, Über Instrumentensterilisierung. Schweiz. Med. Wschr. 62, Jg. Nr. 45, S. 1034.

31. Sobernheim, Bemerkungen zu dem Aufsatz Konrichs: „Sterilisieren wir unsere Instrumente?" DMW. Nr. 31, 1932.

32. Sobernheim und Mündel, Grundsätzliches zur Technik der Sterilisationsprüfung. Ztschr. Hyg. u. Inf. Krankheiten Bd. 118, H. 3, 1936.

33. Thoma und Geschwind, Pharm. Acta Helvetiae 1935, Nr. 8.

34. Veröffentlichungen a. d. Gebiet des Heeressanitätswesens 1934, H. 90: Untersuchungen über die Instrumentensterilisation.

Einschlägige Handbucharbeiten

35. Abderhalden, Handbuch d. biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 4, angewandte chemische und physikalische Methoden, Teil 11, H. 5 (Schluß), Berlin 1936, Reichel, Hch.: Die Methodik der Desinfektion.

36. Gotschlich: Handbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden, Bd. 3, 1929, Schürmann, Die Methoden zur

Prüfung und Begutachtung der Desinfektion. Gotschlich, Sterilisierung, Bd. 1, S. 397.

37. Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. 1, S. 814, 1907/8, Burri, Keimfreimachung und Reinzüchtung.

38. Lehmann-Neumann: Bakt. Diagnostik, Lehmanns med. Handatlanten Bd. 10/2, München 1927.

39. Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen, Bd. 3, 1929, S. 835. Reichel, Desinfektions, und Sterilisationslehre.

40. Bd. 3, 1929, S. 987. Bürgi und Laubenheimer-Desinfektions- und Sterilisationslehre.

41. Rubner, Gruber, Ficker, Handbuch der Hygiene, Bd. 3. 1. Abtlg. 1913, Graßberger: Die Desinfektion.

42. Weyls Handbuch der Hygiene, 2. Aufl. 1922, Bd. 8. Hailer, Die Desinfektion.

Lebenslauf

Am 21. 9. 1910 wurde ich als Sohn des Generalsekretärs der Landwirtschaftskammer Ernst Schwarz zu Gießen geboren. Von Ostern 1917 an besuchte ich die Oberrealschule Gießen und legte dort Ostern 1929 meine Reifeprüfung ab. Nach 3-semestrigem Studium der Veterinärmedizin widmete ich mich dem der Medizin. Sowohl die vorklinischen wie die klinischen Semester verbrachte ich an der Universität Gießen. 1932 machte ich mein Physikum, Ende 1935 bestand ich das Staatsexamen. Nach einjähriger Med.-Praktikanten-Tätigkeit an der Univ. Hautklinik, am Hygien. Institut und an der Univ. Kinderklinik Gießen wurde mir am 16. 12. 1936 die Bestallung als Arzt erteilt. Seit Mitte Januar 1937 bin ich als Vol.-Assistent am Hygienischen Univ.-Institut tätig.